

静脉注射 IL-19 重组质粒对大鼠实验性自身免疫性心肌炎的治疗作用*

常 贺^{1,2▲}, 赵法允^{1▲}, 王 焱^{1,2}, 李 刚², 张 乐², 邹 军^{1△}

(¹厦门大学医学院 福建 厦门 361102; ²厦门市心脏中心 福建 厦门 361004)

[摘 要] 目的: 评估静脉注射白细胞介素 19(interleukin-19, IL-19)重组质粒对大鼠实验性自身免疫性心肌炎(experimental autoimmune myocarditis, EAM)的治疗作用。方法: 将猪心室肌球蛋白与等体积完全弗氏免疫佐剂充分混匀后, 双足皮下注射制作大鼠 EAM 模型, 免疫后第 6 天应用静脉注射方法将 IL-19 重组质粒导入体内, 第 17 天行心脏超声检查后处死大鼠, 检测心脏重量与体重比值、病理学评估、心肌炎面积率; 实时荧光定量 PCR 检测心衰标记物心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠尿肽(brain natriuretic peptide, BNP)的表达水平, 进一步检测心肌相关炎症因子 IL-18、IL-1 β 、IL-12p35 和 IFN- γ 的表达水平。结果: IL-19 重组质粒导入组的大鼠心功能得到显著改善; 心脏重量体重比、心肌炎面积率、ANP、BNP 的表达均较模型组明显下降; 相关炎症细胞因子的表达也显著降低。结论: 应用静脉注射法进行 IL-19 重组质粒体内导入治疗, 明显抑制大鼠实验性自身免疫性心肌炎的炎症反应, 减轻了心肌损伤从而改善心功能。

[关键词] 白细胞介素 19; 自身免疫性心肌炎

[中图分类号] R363.2

[文献标志码] A

doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2015.04.030

Effect of intravenous injecting plasmid encoding interleukin-19-IgG on experimental autoimmune myocarditis in rats

CHANG He^{1,2}, ZHAO Fa-yun¹, WANG Yan^{1,2}, LI Gang², ZHANG Le², ZOU Jun¹

(¹Xiamen University Medical College, Xiamen 361102, China; ²Xiamen Heart Center, Xiamen 361004, China. E-mail: zoujun@xmu.edu.cn)

[ABSTRACT] **AIM:** To evaluate the effect of intravenous injecting plasmid encoding interleukin-19-IgG on experimental autoimmune myocarditis (EAM) in rats. **METHODS:** Cardiac myosin was emulsified with equal volume of complete Freund's adjuvant. The animal model of EAM was established by injecting with the preparation in both footpads of the Lewis rats. The rats were intravenously injected with the plasmid encoding IL-19-IgG on day 6. Echocardiography was performed before the rats were sacrificed on day 17. The effect of IL-19-IgG plasmid injection was evaluated by measuring the heart weight/body weight, myocarditis area, relative expression levels of atrial natriuretic peptide (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP) in the hearts. The mRNA expression levels of related cytokines including IL-18, IL-1 β , IL-12p35 and IFN- γ were detected. **RESULTS:** The rats in model group showed significant myocardial damage and a decrease in the left ventricular functions. The rats in the treatment group injected with IL-19-IgG plasmid showed an improvement of the cardiac functions. The ratio of heart weight/body weight, the area of myocarditis and the mRNA levels of ANP and BNP were significantly lower in IL-19-IgG treatment group than those in model group. The mRNA levels of IL-18, IL-1 β , IL-12p35 and IFN- γ were also significantly decreased in IL-19-IgG treatment group. **CONCLUSION:** Intravenous injection of plasmid encoding IL-19-IgG effectively prevents the development of the left ventricular remodeling and myocardial damage in EAM rats.

[KEY WORDS] Interleukin-19; Autoimmune myocarditis

[收稿日期] 2014-10-27 [修回日期] 2014-12-26

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81270294); 福建省卫生系统中青年骨干人才项目(No. 2013-ZQN-ZD-37); 福建省自然科学基金资助项目(No. 2012J01415)

△通讯作者 Tel: 0592-2181330; E-mail: zoujun@xmu.edu.cn

▲并列第 1 作者

心肌炎和扩张型心肌病是青少年心力衰竭和猝死的常见原因,在心肌炎的发病机制中,自身免疫和炎症因子的释放起重要作用^[1]。炎症性细胞因子不仅通过直接细胞毒作用,还通过激活 T 细胞和 B 细胞的功能,从而激活机体免疫系统。实验性自身免疫性心肌炎(experimental autoimmune myocarditis, EAM)动物模型类似于人的巨细胞性心肌炎的发展进程,Th1/Th2 细胞因子的失衡参与了 EAM 的发生和发展。

白细胞介素 19(interleukin-19, IL-19)是一种促炎性细胞因子,产生于单核细胞及炎症条件下的非免疫细胞,其受体由 2 条受体单链 IL-20R1/IL-20R2 组成的复合体,并且与 IL-20、IL-24 共享该受体复合物,是近年被发现的 IL-10 家族新成员^[2]。IL-10 被认为是很重要的并能有效调节免疫反应的细胞因子,IL-10 的功能包括促进 B 细胞的存活、生长和分化,抑制单核细胞和巨噬细胞炎症细胞因子的合成,以及通过直接或作用于 DC 细胞下调 T 细胞反应。IL-19 参与了多种疾病的免疫反应,报道表明 IL-19 通过促进促炎性细胞因子和趋化因子(IL-1 β 、IL-6、IL-8、CCL5 和 CXCL9)的表达而参与内毒素休克的病理进程^[3]。在 Th1 主导的疾病如银屑病、Th2 主导的疾病如哮喘以及 Th1 和 Th2 均主导的疾病的发病机理中起作用,因此,IL-19 被认为是自身免疫和炎症性疾病的一个潜在治疗靶点^[4]。目前 IL-19 是否发挥促炎抗炎作用尚不清楚,尤其是在心血管疾病方面的研究仍较少,我们前期研究发现,IL-19 及其相关因子在大鼠自身免疫性心肌炎的急性期表达量较高^[5]。本研究应用超声影像学方法,进一步评估 IL-19 重组质粒应用静脉注射法导入体内对大鼠自身免疫性心肌炎的治疗作用,从而为深入研究心肌炎的发病机制提供理论基础和实验依据。

材 料 和 方 法

1 实验动物、仪器和试剂

8 周龄雄性 Lewis 大鼠,体重 180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物许可证号为 SCXK(京)2002-003,饲养于厦门大学实验动物中心。

超速冷冻离心机(Beckman);C1000 双模块梯度 PCR 仪及蛋白凝胶电泳系统(Bio-Rad);7500 型实时荧光定量 PCR 仪(ABI);化学发光仪(Cell Biosciences);猪心室肌球蛋白由日本新泻大学心血管内科赠予;完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)(Difco);Trizol(Invitrogen);逆转录试剂盒 Revert Aid First Strand cDNA Kit、Dream Taq Green PCR

Master Mix(Fermentas);Kod Plus 酶、10 \times 称号 Kod Plus buffer、Not I 内切酶、Swa I 内切酶、*E. coli* JM109 感受态大肠杆菌(TaKaRa);DEPC(Solarbio);琼脂糖(Oxoid);质粒大量提取试剂盒(Omega);Thunderbird SYBR qPCR Mix(Toyobo)。引物序列由 TaKaRa 合成。

2 方法

2.1 体外构建重组质粒 空载质粒 pCAGGS-IgG Fc 和对照质粒 pCACCS-SP-IgG Fc 由日本新泻大学赠予。基因治疗用质粒 pCAGGS-IL-19-IgG Fc 构建方法如下:应用 Kod Plus DNA 酶(Toyobo)和 IL-19 引物(表 1)对 EAM 大鼠心脏的 cDNA 进行扩增,扩增后对 PCR 产物进行 Not I 和 Swa I 双酶切,然后插入到空载质粒 pCAGGS-IgG Fc 中,将连接到空载质粒中的产物转化到 *E. coli* JM 109 感受态大肠杆菌内,复苏后涂在含氨苄青霉素的培养皿上,37 $^{\circ}$ C 孵育 16 h,挑选生长的单克隆进行菌落 PCR 验证及测序验证,对 PCR 及测序验证正确的单克隆进行大量培养,利用 Omega 质粒提取试剂盒对菌液进行提取,并将获取质粒进行纯化并稀释到 2 g/L 浓度。

2.2 EAM 模型建立及实验分组 将纯化猪心室肌球蛋白溶解于 0.3 mol/L KCl 溶液中配制成 10 g/L 的溶液,与等体积完全弗氏免疫佐剂(含有结核分支杆菌 10 g/L)充分混匀后,在大鼠双足皮下注射建立 EAM 模型,每只鼠 0.2 mL,将大鼠随机分为正常组、EAM + SP-IgG 对照组、EAM + IL-19-IgG 组,每组各 9 只。

2.3 重组质粒体内导入及导入后鉴定 第 6 天应用静脉注射法进行重组质粒的体内导入,即含有 800 μ g(约 400 μ L)的重组质粒 pCAGGS-SP-IgG Fc 或 pCAGGS-IL-19-IgG 的林格氏液(约 80 mL/kg)快速注入大鼠尾静脉内(15 s)。注射后 24 h,各组随机处死 3 只大鼠,取肝组织^[6]提取总 RNA,逆转录为 cDNA。取 cDNA 各 0.5 μ L,进行 20 μ L 体系的 PCR 扩增,利用 Taq DNA 酶(Fermentas)和引物(表 1)对大鼠肝脏 cDNA 进行扩增,取 5 μ L 扩增产物加 1 μ L 上样缓冲液经 2% 琼脂糖凝胶 120 V 电压下电泳 20 min,凝胶成像系统分析注射质粒后大鼠肝组织内 IL-19 及 SP mRNA 的表达。

2.4 超声心动图评估 第 17 天对所有大鼠进行超声心动图评估:腹腔注射 10% 水合氯醛(3 mL/kg),麻醉后仰卧位固定,采用 GE Vivid7 型彩色多普勒血流显像仪(探头频率 14.0 MHz)行 M 型超声心动图检测。分别测定左室舒张末横径(left ventricular end-diastolic internal diameter, LVEDd)、收缩末横径(left ventricular end-systolic internal diameter, LV-

EDs)、室间隔厚度 (interventricular septal thickness, IVS)、左室后壁 (left ventricular posterior wall thickness, LVPW)、左室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS) 及射血分数 (ejection fractions, EF) 等指标。

2.5 病理学检测 第 17 天处死大鼠, 称取大鼠体重及心脏重量, 计算大鼠心脏重量体重比值, 取大鼠心脏垂直于长轴横切取约 5 mm 厚心肌组织, 以 10% 甲醛溶液固定过夜, 石蜡包埋, 间断切片, 进行 HE 染色。心肌炎面积程度镜下分 0~4 级进行评分 (0 分为无炎症浸润; 1 分为炎性细胞浸润 <5%; 2 分为浸润面积 5%~10%; 3 分为浸润面积 10%~20%; 4 分为浸润面积 >20%) [7]。

2.6 Real-time PCR 检测心肌组织心房钠尿肽 (atrial

natriuretic peptide, ANP)、脑钠尿肽 (brain natriuretic peptide, BNP) 及相关炎症因子 mRNA 的表达

Trizol 法从大鼠心肌组织提取总 RNA, 干燥后溶于 DEPC 水中, 用分光光度计测定 RNA 的纯度与浓度。纯度参考 A_{260}/A_{280} 比值 (纯度范围在 1.8~2.0)。取 RNA 2 μ g 逆转录合成 cDNA, 以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参照, 采用 20 μ L 体系进行 PCR 扩增。ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增反应: 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s。ANP、BNP 及相关炎症因子 IL-18、IL-1 β 、IL-12p35、IFN- γ 引物由 TaKaRa 公司合成, 见表 1。

表 1 IL-19 及其相关因子的引物序列

Table 1. The primers for real-time PCR

Name	Sense primer	Anti-sense primer
IL-19	5'-ttcatttaaatgggttctctctcagtt-3'	5'-gcatecggccgccagacgttctctgatgattcct-3'
SP	5'-ttcatttaaatgccttcaccatgaagtcag-3'	5'-gcatecggccgccgtctccaacagcatttcctta-3'
ANP	5'-atggattcaagaacctgctaga-3'	5'-gctccaatcctgtcaatcctac-3'
BNP	5'-gatgattctctctctgcttctc-3'	5'-gccatttctctgacttttctc-3'
IFN- γ	5'-gaaagacaaccaggccatcag-3'	5'-tcatgaatgcaccttttttgc-3'
IL-1 β	5'-gctagtgtgtgatgtcccattag-3'	5'-cttttccattcttcttttgggta-3'
IL-12p35	5'-agacatcacacgggacaaaac-3'	5'-cacagggtcatcatcaagaag-3'
IL-18	5'-atcagaccactttggcagactt-3'	5'-cttccatccttcacagataggg-3'
GAPDH	5'-atcaccattcttcaggagcga-3'	5'-agccttctccatggtggtgga-3'

3 统计学处理

实验数据以均数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示, 应用 SPSS 16.0 软件处理, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 IL-19 重组质粒导入后在肝脏中的表达

重组质粒经过静脉注射的基因转运方法导入到 EAM 大鼠体内 24 h 后 RT-PCR 结果显示, 与未接受基因导入的 EAM 大鼠比较, 基因导入后 SP 和 IL-19 在肝脏的表达水平明显增强, 这说明 SP-IgG 和 IL-19-IgG 基因被成功导入大鼠体内, 见图 1。

2 心肌组织病理学评估

第 17 天处死所有大鼠, 心肌组织 HE 染色显示, 与正常组比较, EAM + SP-IgG 组可见广泛大量炎症细胞浸润和心肌组织坏死; 与 EAM + SP-IgG 组比较, EAM + IL-19-IgG 组的炎症细胞浸润及心肌组织坏死程度均明显减轻 (图 2)。与正常组比较, EAM + SP-IgG 组心脏重量体重比值明显增大, 而 EAM + IL-19-

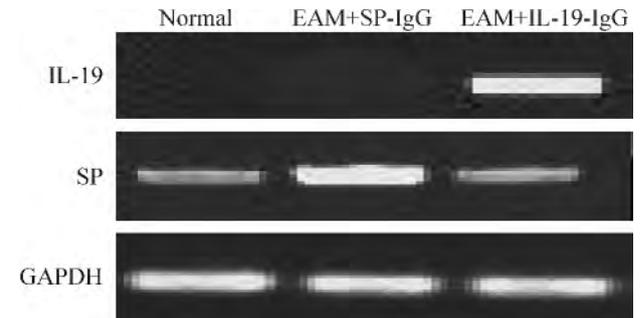


Figure 1. The mRNA expression of SP and IL-19 in the liver tissues of the rats with experimental autoimmune myocarditis (EAM) determined by RT-PCR.

图 1 SP-IgG 和 IL-19-IgG 重组质粒导入后在肝脏中的表达

IgG 组大鼠的心脏重量体重比值显著下降, 心肌炎症面积率也显著减少, 见图 3。

3 超声心动图评估心功能

第 17 天对所有大鼠进行超声心动图检测, 与正常组相比, EAM + SP-IgG 组大鼠的 LVEDd、LVESd、LVPW 及 IVS 均明显增大, 而 LVEF 和 LVFS 均明显

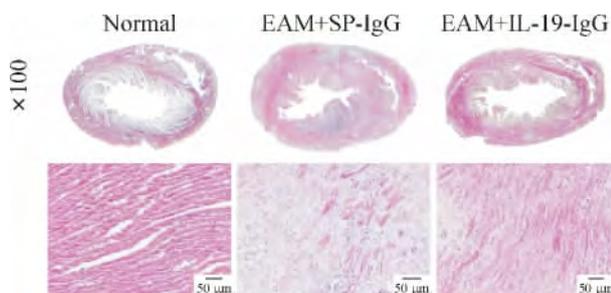


Figure 2. The histopathological images of the hearts with experimental autoimmune myocarditis (EAM).

图2 EAM大鼠心肌组织病理学评估

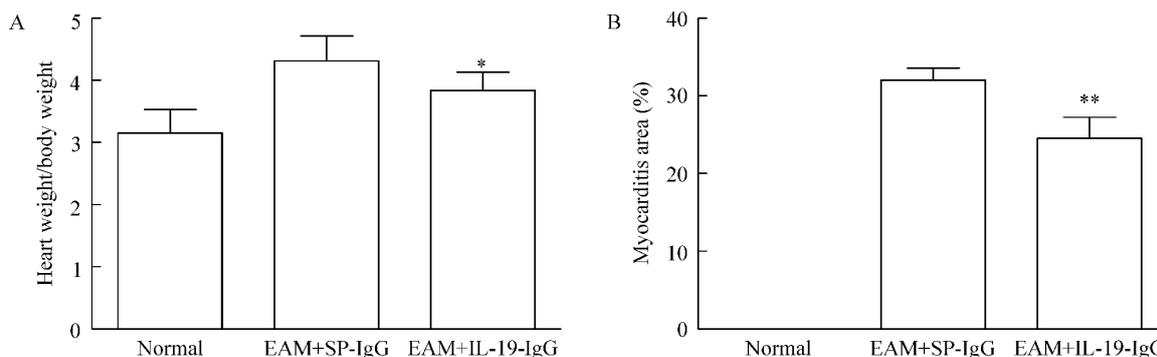


Figure 3. The heart weight/body weight (A) and myocarditis area (B) in the rats with experimental autoimmune myocarditis (EAM). Mean \pm SD. $n = 6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs EAM + SP-IgG.

图3 心脏重量体重比和心肌炎面积率的比较

表2 超声心动图评估各组动物的心功能

Table 2. Evaluation of the heart functions in the rats with experimental autoimmune myocarditis (EAM) by echocardiography (Mean \pm SD. $n = 6$)

Cardiac function	Normal	EAM + SP-IgG	EAM + IL-19-IgG
LVEDd (mm)	6.575 \pm 0.131	7.051 \pm 0.137	7.090 \pm 0.219
LVESd (mm)	3.990 \pm 0.115	4.872 \pm 0.115	5.000 \pm 0.182
LVPW (mm)	1.359 \pm 0.036	1.767 \pm 0.196	1.265 \pm 0.068*
IVS (mm)	1.350 \pm 0.049	1.566 \pm 0.117	1.237 \pm 0.067*
LVEF (%)	75.460 \pm 1.057	52.780 \pm 4.201	63.420 \pm 2.034*
LVFS (%)	41.000 \pm 1.067	26.280 \pm 1.493	30.380 \pm 0.856*

* $P < 0.05$ vs EAM + SP-IgG.

达显著下降(图4),说明 EAM + IL-19-IgG 治疗组明显改善心脏功能。另外, EAM + SP-IgG 组大鼠与正常组相比, IL-18、IL-1 β 、IL-12p35 及 IFN- γ 的表达水平显著升高,而 EAM + IL-19-IgG 治疗组大鼠与 EAM + SP-IgG 组相比, IL-18、IL-1 β 、IL-12p35 及 IFN- γ 的表达水平显著下降(图5),这说明 EAM + IL-19-IgG 治疗组通过抑制这些炎症因子的分泌发挥抗炎作用。

讨 论

在本研究中,我们应用静脉注射基因方法评估了 IL-19 体外重组质粒对大鼠 EAM 的治疗效果。静

下降。与 EAM + SP-IgG 组大鼠相比, EAM + IL-19-IgG 治疗组大鼠的 LVPW、IVS 均有明显减小,而 LVEF、LVFS 均显著回升,提示心功能得到显著改善,见表2。

4 心肌组织 ANP、BNP 及炎症因子的表达

第17天处死所有大鼠,取各组大鼠心脏,提取心肌组织总 RNA,逆转录合成 cDNA,应用实时荧光定量 PCR 检测心衰特异性标记物 ANP 及 BNP 的表达。结果显示, EAM + SP-IgG 组大鼠与正常组相比, ANP、BNP 的表达水平显著升高,而 EAM + IL-19-IgG 治疗组大鼠与 EAM + SP-IgG 组相比, ANP、BNP 的表

脉注射法进行重组质粒导入的方法曾经被应用和报道, Liu 等^[6]和 Zhang 等^[8]都曾经报道应用这种方法进行基因治疗研究,他们发现通过尾静脉在短时间内大容量注射含有裸质粒溶液,外源基因能够在肝脏获得高表达,最后外源基因转录翻译后获得的嵌合蛋白通过血液循环被运送到其它组织器官如心脏和肾脏等。另外,我们应用的质粒载体 PCAGGS 上融合了 Ig-Fc 片段,不仅可以使得初始细胞因子获得更长的循环半衰期,使之具有免疫球蛋白的特性,还可以使之与配体有更强的亲和力。

目前关于 IL-19 在免疫调节方面的生物学作用还知之甚少, IL-19 到底发挥促炎还是抗炎作用尚不

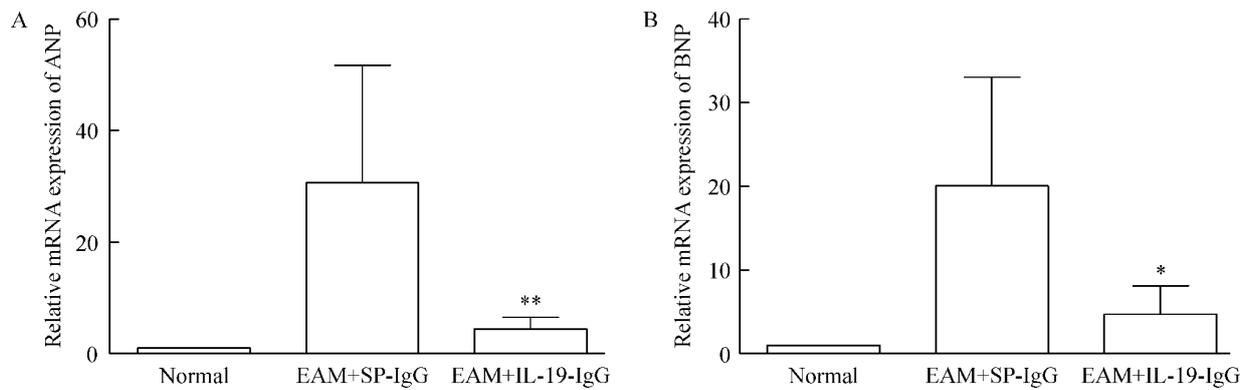


Figure 4. The relative mRNA expression of ANP (A) and BNP (B) in the rat myocardium of the rats with experimental autoimmune myocarditis (EAM). Mean \pm SD. $n = 6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs EAM + SP-IgG.

图4 心衰标记物 ANP、BNP mRNA 的表达水平比较

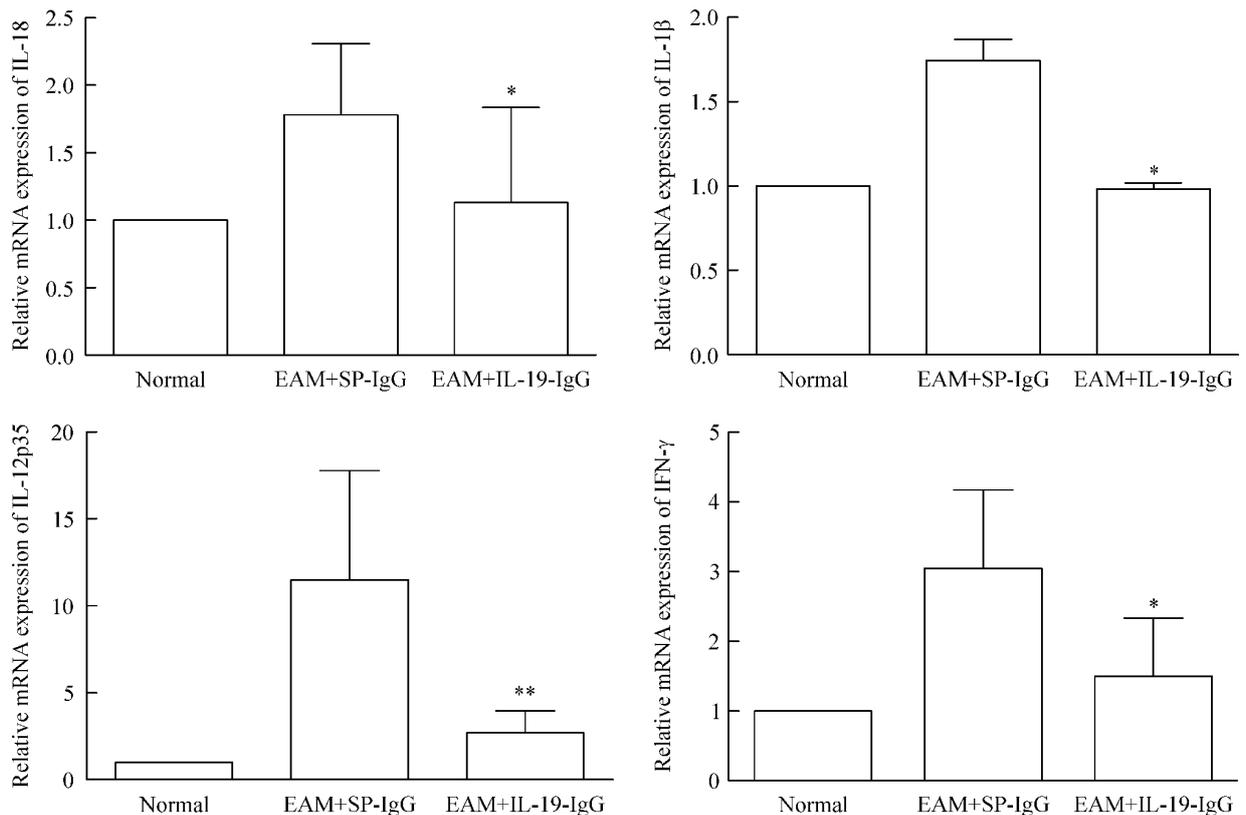


Figure 5. The relative mRNA expression of IL-18, IL-1 β , IL-12p35 and IFN- γ in the myocardium of the rats with experimental autoimmune myocarditis (EAM). Mean \pm SD. $n = 6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs EAM + SP-IgG.

图5 心肌组织炎症因子 IL-18、IL-1 β 、IL-12p35 及 IFN- γ 的表达

明确。有研究报道 IL-19 与一些免疫性疾病有关,可以促进 Th1/Th2 细胞反应性疾病包括银屑病、哮喘、类风湿关节炎等。也有研究报道 IL-19 作为 IL-10 家族成员,可能和 IL-10 一样具有抗炎效应,IL-10 是能有效调节免疫反应的一个重要细胞因子,在控制细胞介导和炎症反应包括 EAM 中扮演重要作用^[9]。本研究应用大鼠 EAM 动物模型,成功导入外源性 IL-19-IgG 重组质粒,证实 IL-19-IgG 的基因导入对大鼠 EAM 有明显治疗作用,包括心脏重量/体重比值的减少,心肌炎面积的减轻,心衰标记物 ANP、BNP

表达的下降及一些炎症因子 IL-18、IL-1 β 、IL-12p35 和 IFN- γ 表达的降低。但是以上检测指标都只停留在 mRNA 水平,由于未订购到特异性强的大鼠 IL-19 抗体及以上炎症因子的抗体,以致结果中缺乏蛋白水平的表达,这也是本实验的不足之处,我们将在后续的研究中进一步补充和完善。

在 EAM 急性期,大量炎症因子在脾脏表达。IL-1 被认为是一种淋巴细胞激活因子,产生于单核细胞、巨噬细胞、树突细胞、B 细胞和 NK 细胞,是一种很重要的致炎因子,它包括 2 种结构不同形式的 IL-1 α 和

IL-1 β ,它们均为靶细胞强有力的刺激剂 ,IL-1 β 对心血管影响较 IL-1 α 更为重要 ,IL-1 β 具有单独调节心肌功能的作用 ,显示其负性变力效应 ,研究表明在 EAM 模型中 ,第 14 天时 IL-1 β 在心脏组织表达已增加 ,提示 IL-1 β 也是促进心肌重构的重要因素。IL-12 由各种抗原提呈细胞分泌 ,包括单核细胞、巨噬细胞和 DC 细胞。此外 IL-12 是 Th1 细胞因子 ,它诱导 Th0 向 Th1 细胞分化 ,并且能通过诱导 IFN- γ 的产生抑制 Th2 细胞的分化^[10]。IL-18 最初定义为 IFN- γ 的诱导因子 ,是一个多功能和多效性的促炎性细胞因子 ,并且是 IL-1 超家族的成员之一 ,为 Th1 反应辅助因子。IL-18 和 IL-12 协调诱导 T 细胞和 NK 细胞产生 IFN- γ ,IFN- γ 是 Th1 型细胞因子的代表 ,Th1 细胞分泌的 IFN- γ 在 EAM 中扮演重要的作用 ,我们的实验结果表明 ,在 EAM 大鼠中 ,IL-19 可能通过抑制炎症因子的分泌 ,影响 Th 细胞的分化 ,改变复杂炎症网络的平衡 ,并且促进 Th2 细胞分化 ,具有抗炎性倾向 ,从而对心肌炎起到治疗作用。

我们的研究提示了 IL-19 在心肌炎中发挥抗炎效应 ,也有相关报道和本研究的观点一致。在炎症性肠病中内源性 IL-19 呈现出保护性作用 ,Azuma 等^[11]建立了在 *IL-19*^{-/-} 小鼠 DSS 大肠炎模型 ,并且表明这些小鼠相比于那些免疫完整的小鼠更易感大肠炎。活动性克罗恩病中 ,IL-19 表达缺陷及对其反应的缺少有利于疾病炎症的发展^[12]。此外 ,腺病毒介导的 *IL-19* 融合基因转入大鼠后能有效减少损伤 ,并且激活 MAPK ;进一步发现一些细胞炎症因子能诱导 IL-19 的产生 ,而 IL-19 能通过减低编码炎症性蛋白的 mRNA 种属的稳定性从而减少血管平滑肌的炎症反应^[13]。一些在体外实验的研究表明 IL-19 能诱导 CD4⁺ T 细胞产生 Th2 细胞因子 ,在周围血单核细胞 IL-19 增加 IL-10 的产生 ,长时间暴露于 IL-19 的 T 细胞会下调 IFN- γ ,上调 IL-4 和 IL-13^[14]。但是也存在一些有争议的研究发现在单核细胞 IL-19 上调促炎因子 IL-6 和 TNF- α 的产生 ,在银屑病患者皮肤发现 IL-19 及其 2 条受体链 IL-20R1/IL-20R2 的表达 ,进一步研究发现减少 IL-19 水平的治疗是有效的。目前关于 IL-19 的生物学功能仍未明确 ,抗炎作用和促炎作用众说纷纭 ,我们认为可能与 IL-19 在不同的疾病和不同的细胞类型中会表现出不同的效应有关^[15]。

参 考 文 献

- [1] Leuschner F , Katus HA , Kaya Z. Autoimmune myocarditis: past , present and future [J]. J Autoimmun , 2009 , 33 (3-4) :282-289.
- [2] Sabat R , Wallace E , Endesfelder S , et al. IL-19 and IL-20: two novel cytokines with importance in inflammatory diseases [J]. Expert Opin Ther Targets , 2007 , 11 (5) : 601-612.
- [3] Hsing CH , Chiu CJ , Chang LY , et al. IL-19 is involved in the pathogenesis of endotoxic shock [J]. Shock , 2008 , 29(1) :7-15.
- [4] Azuma YT , Nakajima H , Takeuchi T. IL-19 as a potential therapeutic in autoimmune and inflammatory diseases [J]. Curr Pharm Des , 2011 , 17(34) :3776-3780.
- [5] 常 贺 , 吴梁安 , 李 刚 等. IL-19 及其相关因子在大鼠自身免疫性心肌炎各时程的表达特征 [J]. 免疫学杂志 , 2012 , 28(1) :29-34.
- [6] Liu F , Song Y , Liu D. Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA [J]. Gene Ther , 1999 , 6(7) :1258-1266.
- [7] 曹滨冬 , 李为民 , 高 成 等. 阿托伐他汀对 Lewis 大鼠实验性自身免疫性心肌炎作用的研究 [J]. 中国病理生理杂志 , 2007 , 23(3) :536-539.
- [8] Zhang G , Budker V , Wolff JA. High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injections of naked plasmid DNA [J]. Hum Gene Ther , 1999 , 10 (10) :1735-1737.
- [9] Oral HB , Kotenko SV , Yilmaz M , et al. Regulation of T cells and cytokines by the interleukin-10 (IL-10)-family cytokines IL-19 , IL-20 , IL-22 , IL-24 and IL-26 [J]. Eur J Immunol , 2006 , 36(2) :380-388.
- [10] Afanasyeva M , Wang Y , Kaya Z , et al. Interleukin-12 receptor/STAT4 signaling is required for the development of autoimmune myocarditis in mice by an interferon-gamma-independent pathway [J]. Circulation , 2001 , 104(25) : 3145-3151.
- [11] Azuma YT , Matsuo Y , Kuwamura M , et al. Interleukin-19 protects mice from innate-mediated colonic inflammation [J]. Inflamm Bowel Dis , 2010 , 16(6) :1017-1028.
- [12] Canto E , Garcia Planella E , Zamora-Atenza C , et al. Interleukin-19 impairment in active Crohn's disease patients [J]. PLoS One , 2014 , 9(4) :e93910.
- [13] Cuneo AA , Herrick D , Autieri MV. IL-19 reduces VSMC activation by regulation of mRNA regulatory factor HuR and reduction of mRNA stability [J]. J Mol Cell Cardiol , 2010 , 49(4) :647-654.
- [14] Jordan WJ , Eskdale J , Boniotti M , et al. Human IL-19 regulates immunity through auto-induction of IL-19 and production of IL-10 [J]. Eur J Immunol , 2005 , 35(5) : 1576-1582.
- [15] Gallagher G. Interleukin-19: multiple roles in immune regulation and disease [J]. Cytokine Growth Factor Rev , 2010 , 21(5) :345-352.